ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

Из Бактериологического Отделения Ленинградского Государственного И-та для усовершенствования врачей.

Об органотаксисе*

Проф. *Г. Д. Белоновского* и *А. А. Миллера* (Ленинград).

(С 6 табл.).

1. Работы, проделанные в лаборатории проф. Белоновского, начиная с 1921 г.[1], ясно показали, что механизм, при помощи которого вакцинотерапия оказывает лечебный эффект, заключается в вызывании специфической очаговой реакции. Эта реакция получается, несмотря на то, что место ин'екции вакцины может быть возможно далеко от инфекционного очага. Таким образом, надо предположить, что впрыснутая вакцина, вследствие химиотаксиса, по крайней мере частично, устремляется в сенсибилизованный очаг и там вызывает специфическую реакцию. Что это так, доказывается: а) априорными соображениями, b) экспериментами.

а) Туберкулиновая очаговая реакция может быть вызвана таким количеством туберкулина, как, например, 0,001 mgr. Если расчитать, что это количество разбавляется в организме взрослого человека 5 литрами крови, получим такое гомеопатическое разведение туберкулина, которое не в состоянии вызвать какой-либо специфической реакции (напр., „кутиреакции"). Априорные соображения говорят, что впрыснутый туберкулин, весь или почти весь, концентрируется в туберкулезных очагах.

b) *Эксперименты.* Если к вакцине присоединить какой-либо индикатор, напр., железные квасцы, и такую феррированную вакцину впрыснуть под кожу животному, у которого в полости брюшины находится вшитый коллодийный мешочек с бульонной культурой того же микроба, то в полости брюшины, кроме специфической реакции, можно обнаружить значительные следы железа, тогда как в контрольных опытах, где впрыскивается одно железо или феррированная вакцина несоответствующего микроба, в сенсибилизованных очагах констатировать железо не удается.

Эти опыты дали возможность говорить о „химиовакцинотерапии", т. е. о присоединении к вакцине химиотерапевтических веществ. Широкое распространение в СССР уротропино-гонококковой вакцины[2] есть результат этих опытов. Быть может, употребление таких вакцин, как иодовакцины (Ranque и Senez), формализованные вакцины (Costa), сульфовакцины (Bergeron и Vagram), ятреновакцины и проч., также исходит из вышеописанного принципа.

Очень нтересны опыты датского бактериолога Walbum'а[3]. Он нашел, что мышиный тиф, дающий 100% смерти, дает 100% выздоровления, если инфицированным мышам впрыскивать вакцины из бактерий мышиного тифа с раствором марганца определенной концентрации (один марганец или одна вакцина дают те же 100% смерти).

II. Уже старые работы, вышедшие из И-та Пастера и других лабораторий (Мечникова, Delezenne'а, Безредки, Метальникова, Landstein'а, Белоновского и мн. др.) относительно цитотоксинов, говорят о специфичности их действия. Если эта специфичность и неполная, то все же, при действии специфической сыворотки, на первом плане—специфическое действие на соответствующие клеточные элементы.

Эти-то соображения дали возможность предполагать, что при соединении эмульсий различных органов с различными химическими веществами и ин'екции смеси животным будет наблюдаться специфическая концентрация введенных химических веществ в тех органах, эмульсии которых употреблены для приготовления смеси, так как ткань соответствующих органов надо считать сенсибилизованной к клеткам этого органа.

С целью проверить указанную гипотезу нами был произведен ряд экспериментов. В первую очередь были испробованы смеси эмульсий органов с солями железа, как веществом, легко открываемым в тканях органов; затем смеси эмульсии органов с красками: кармином и tripanblau и, наконец, эмульсии органов с natr. salicyl. Определение наличия этих веществ в органах, послуживших для эксперимента животных, производилось или исследованием срезов органов или химическим исследованием вытяжек из органов. Несколько опытов было поставлено с химическим определением субстанций в золе органов. Всего было произведено 64 опыта на мышах, 20—на свинках и 8—на кроликах.

Эмульсии органов готовились следующим образом. Животное убивалось эфиром, органы стерильно вынимались, промывались, растирались в ступке с песком, разбавлялись физиологическим раствором, взбалтывались в Schüttel-аппарате с соответствующим количеством химических веществ или красок и ставились в термостат на 12 час. Перед ин'екцией взбалтывались вторично.

Предварительные опыты установили, что дозы—мозга 0,003, testes и легких—0,01 и остальных органов—0,1, могут быть применяемы обычно без гибели животнго (мыши). При больших дозах происходит гибель животных, так как эмульсии из органов, как известно, являются токсигенными (Brown и Allen, Jadasson и мн. др.). Количество вводимого в виде железных квасцов железа также пришлось подобрать (опыты на мышах).

Табл. I.

Введено куб. сант.	Концентрация железа	Исход
0,5	10%	Смерть через 1 час
0,5	1%	То же „ 3½ часа
1,0	0,09%	„ „ 18 „
0,5	0,09%	„ „ 36 „
0,25	0,09%	Жива

Таким образом, для опытов с железными квасцами бралось для ин'екции 0,25 к. с. смеси, содержащей указанное выше количество ткани, в 0,09%-м растворе железных квасцов. Эмульсия вводилась в вену и интраперитонеально. Ин'екция повторялась через 24 часа через 12 часов после ин'екции животное убивалось.

При вычислении доз делались поправки на вес животного.

Табл. II.

Опыты с железными квасцами (мыши).

№№ мыши	Орган, с эмульсией которого вводилось Fe.	Наличие Fe в органах: Печень	Селезенка	Мозг	Testes
11	Печень	+++	++	—	—
12	Мозг	+	++	++	—
13	Почка	+	—	—	—
14	Testes	+	—	—	++++ капсула
15	Селезенка	+	++++	—	—
16	Одно Fe	+	+	—	—
17	Норм. животн.	+	+	—	—

Определение наличия железа производилось микроскопически в срезах (*методика:* алкоголь, замораживание, 12 часов сернистый аммоний, 15 минут смесь из 20% K_2FeCN_6 и 1% HCl ($\overline{aa}$); срезы исследовались без докраски, так как последняя часто маскировала Fe в глицерине). В случае наличия Fe наблюдалась диффузная голубоватая окраска и сине-зеленоватые отложения.

---

* Доложено на X-м Всесоюзном С'езде бактериологов в Одессе (сент. 1926 г.).

[1] Белоновский. „Врач. Дело" 1923; Он же D. med. Woch. № 28, 1924 Miller. J. of Immun. 1926, 6. Калинин. Ж. для усов. врач. 1925, 11.

[2] Уротропин взят по предложению Bruck'а (Kl. Woch. 1922).

[3] Seuchenbek. 1926, Bd. III, 5/6.

Как видно из табл. II, железо часто наблюдалось и в других органах, но всегда в количестве значительно меньшем. Аналогичные опыты проделаны с $K_4Fe_2CH_6$ (доза для ин'екции: 0,25 $1^0/_0$-го раствора) и дали аналогичные результаты. При убивании животных через короткое время после ин'екции (15 - 60 м.) специфического отложения железа не наблюдалось. При ин'екции Fe с эмульсией testis в самой ткани testis Fe не обнаруживалось, в то время как капсула testis давала резко-выраженную реакцию на Fe.

Опыты с красками. Убедившись, таким образом, в наличии специфической концентрации растворимых солей Fe, мы предприняли опыты с коллоидными красками, взяв для этой цели кармин и tripanblau.

При повторной их ин'екции наблюдается, как известно, сначала диффузная имбиция соединительной ткани органов, затем через 24 часа образуются гранулярные отложения сперва в печени, затем в селезенке, легких и т. д. (Goldemann, Аничков, Aschoff, Kiono и др.) Нам было интересно выяснить, как будет происходить отложение краски при впрыскивании ее с эмульсией органов.

Опыты с кармином. Кармин для прижизненной окраски употреблялся в дозах 0,2 - 1,0 куб. с. $^1/_2{}^0/_0$-го раствора, с интервалами 2-3 дня до 4 раз, внутрибрюшинно. Животные убивались через 24 часа после последней ин'екции. Результаты видны из следующей таблицы:

Табл. III.

№№ животн.	Орган, с эмульсией которого вводился кармин	Наличие кармина в органах					
		Почка	Печень	Селезенка	Сердце	Легкие	Мозг
25	Почка	++++	+	+	—	—	—
26	Печень	++	++++	+	—	—	—
27	Мозг	+	—	—	—	—	++
28	Селезенка	+	+	+++	—	—	—
29	Один кармин	++	+	±	—	—	—

++++, +++, ++, + — различные степени отложения краски.

Определение наличия кармина производилось микроскопически в срезах (кусочки органов заливались в целлоидин и частично докрашивались метиленовой синькой. Срезы заключались в канадский бальзам).

Как видно из табл. III, происходила ясная специфическая концентрация. Окраска и отложение кармина происходило и в других органах брюшной полости, но в значительно меньшей степени.

Опыты с tripanblau. Мы применяли для ин'екции мышам по 0,5 к. с. $1^0/_0$ раствора tripanblau с эмульсией органов (см. выше). Впрыскивания повторялись 4 раза внутрибрюшинно, с промежутками 2 - 3 дня. Через 24 часа после последней ин'екции мыши убивались. Полученные результаты можно представить на таблице IV.

Табл. IV.

№№ мышей	Орган, с эмульсией которого вводилась краска	Наличие tripanblau в органах:					
		Почка	Печень	Селезенка	Сердце	Легкое	Мозг
34	Селезенка	++	+	+	?	++	—
35	Печень	+	++++	+	±	+	—
36	Почка	++++	++	—	—	+	—
37	Легкое	+	±	?	—	+	—
38	Сердце	+	+	+	++++	—	—
39	Мозг	+	+	±	—	—	++
40	Одна краска	—	+	±	±	—	—

Наличие tripanblau определялось микроскопически в срезах. Кусочки органов заливались в параффин. Срезы заключались в канадский бальзам. В этих опытах также вполне ясно выражено специфическое отложение краски. Последняя видна в виде диффузной окраски и, главным образам, в виде синих клеток. Благодаря мелким частицам краски, она легче распространяется по организму, чем кармин, и се мы видим уже в органах грудной клетки. В этих опытах отложение краски есть почти во всех органах, но оно менее выражено, чем в органах, с эмульсией которых вводилась краска.

Опыты с tripanblau и мозгом. В виду того, что в первых наших экспериментах мы не получили с этой краской ожидаемых результатов, обработка мышей была усилена. Пять мышей получили по 0,5 к. с. мозговой эмульсии (см. выше) в $1^0/_0$-м растворе tripanblau, каждый день в течение недели. В результате мы наблюдали появление синих клеток в поверхностных слоях мозга. Как контроль, исследовались мыши, которым вводилась и одна краска и краска с эмульсией других органов (см. табл. IV). Ни в одном случае мы не обнаружили наличия таких синих клеток. Надо сказать, что и в удачных случаях положительный результат получился лишь у 3-х мышей (из 5). При аналогичных опытах со свинками получились более постоянные и ясные результаты (свинкам ежедневно, в течение 5 дней, вводилось в перитонеум 0,5 к. с. $^1/_2{}^0/_0$-го раствора краски и железных квасцов с эмульсией мозга).

Таким образом, все эти опыты, обследованные микроскопически, дают ясную картину специфического *органотаксиса.* Чтобы проверить об'ективность оценки результатов, были предприняты опыты с колориметрическим определением Fe и natrum salicylicum в различных органах животных, после ин'екции их растворов в смеси с эмульсией различных органов.

Опыты производились на свинках. Смеси вводились однократно в количестве 1 к. с. $10^0/_0$-го раствора $K_4Fe_2CN_6$ и такого же количества и концентрации natrum salicylicum с эмульсией органа. Животные убивались через 2 часа, и органы их исследовались по способу проф. Борисова, разработанному Кутеладзе[1], а именно: органы настаивались с водой в термостате 24 часа, вытяжки центрифугировались и исследовались на цветную реакцию в щелочной среде. Очень резких окрасок, таких, о которих говорит Лучинин, у нас не получалось (возможно — из-за краткого времени, протекшего до убивания животного), так что сравнивать различные степени положительных реакций не пришлось, но отличие их от отрицательных при контрольных опытах было вполне явственно.

Результаты можно представить в виде следующей таблицы:

Табл. V.

	Почка	Печень	Мозг	Селезенка
Реакция нормальн. органов на Fe и natr. salicyl.	—	—	—	—
Органы свинки, обработанной эмульсией мозга + + natr. salicyl.	—	+	+	+
То же + $K_4Fe_2CN_6$	—	—	+	—
Орган свинки, обработ. эмульсией почки + natr. salicyl.	+	+	—	+
То же + $K_4Fe_2CN_6$	+	—	—	—

+ : положительная цветная реакция.
— : отрицательная.

Табл. V показывает (если сравнить результаты по вертикальным столбцам) подтверждение ожидаемых результатов. Получение положительных результатов в печени и селезенке с natrum salicyl. в этих опытах ничего удивительного не представляет, так как, по опытам Лучинина[2], эти органы усиленно поглощают салициловый натр.

В заключение можно привести данные, полученные при химическом исследовании водного остатка свинок, обработанных вышеуказанными методами. Исследование производилось сжиганием определенной навески (количества) органа, зола растворялась в соляной кислоте, количество железа в растворе определялось колориметрически (см. табл. VI).

Табл. VI.

	Мозг	Печень
Нормальные органы	0,045$^0/_{00}$	0,2$^0/_{00}$
Органы животного, обработанного одним Fe	0,034$^0/_{00}$	1,5$^0/_{00}$
Органы животн. обработанного Fe + эмульсия соответствующего органа	0,15$^0/_{00}$	3,5$^0/_{00}$

[1] См. Лучинин. М. Мед. Журн. 1925, 6.
[2] l. c.

Цифры, полученные с нормальными органами, соответствуют данным, полученным Georghegan'ом[1] для мозга (0,01 - 0,018‰) и Lapique'ом[5] для печени (0,4‰) у взрослых животных.

В заключение мы приведем опыты с раковыми опухолями крыс. Эти опыты произведены Никольским отчасти в нашей лаборатории, отчасти в раковом отделении проф. Петрова (б-ца им. Мечникова). Они дали очень убедительные результаты в интересующем нас направлении.

Опыты проделаны на 6 сериях белых крыс, взрослого возраста, на которых поддерживался штамм раковой опухоли Контрольным крысам вводился внутрибрюшинно раствор tripanblau от 1% до 1‰ концентрации, в количестве 1-го к. с., опытным же животным — то же количество такого же раствора краски, но вместе с эмульсией из раковой опухоли. Ин'екция производилась 2 - 4 раза, с промежутками 2 - 3 дня, через 24 часа после последней ин'екции животное убивалось. В результате крысы, ин'ецированные одной краской, представлялись равномерно слабо - окрашенными, при впрыскивании же краски вместе с эмульсией из опухоли вся опухоль крысы представлялась резко-синего цвета, выделяясь из всего окружающего, слабо - окрашенного. Особенно интенсивное окрашивание было в капсуле. Окраска (без новых ин'екций) держалась около недели.

Все данные, таким образом, сходятся. Можно говорить о большей или меньшей силе концентрации, но специфическая концентрация—органотаксис — кажется нам доказанной.

Настоящее исследование совершенно не касается вопросов более гистологического характера: какие клетки обнаруживают наибольшее стремление к органотаксису, какие изменения наблюдаются в структуре и проч., с чем приходится сталкиваться при изучении ретикуло-эндотелиального аппарата; все эти вопросы должны послужить предметом дальнейших исследований.

Как же об'яснить себе механизм такой избирательной концентрации? Во-первых, здесь может играть роль положительный химиотаксис родственных клеток, или вернее родственных белковых или иных субстанций, увлекающих с собою присоединенное химическое вещество. Какие химические субстанции можно переносить таким образом в органы, — мы сейчас сказать не можем. Из прежних экспериментов, касающихся химиовакцинотерапии (l. c.), выяснилось, что не всякие химические вещества можно присоединить к микробной вакцине. Так, например, оптохин легко присоединяется и переносится в бактериальные очаги при соединении с пневмококками и менингококками и не переносится гонококками, очевидно, не вступая в соединение с гонококковым антигеном.

Существование положительного химиотаксиса между родственными клетками мы можем подтвердить интересными опытами Born'а[2]. Он сращивал перерезанных амфибий, прикладывая друг к другу. Несмотря на то, что ткани не совпадали, сращение происходило таким образом, что соединительная ткань как бы отыскивала и срасталась с соединительной тканью, мышцы — с мышцами, органы—со своими же гомологами. Эти явления можно рассматривать, как проявления органотаксиса. В свете интересующих нас экспериментов получают об'яснение опыты Levaditi и Nicolau[3] относительно бисмоксила: висмут, соединенный с вытяжкой из печени, оказывает во много раз более сильное специфическое действие, чем простой раствор висмута. Если принять, что при сифилисе печень является одним из наиболее страдающих органов, механизм усиления висмута является понятным, так как последний сконцентрировывается преимущественно в печени.

Можно предположить еще другие процессы, которые наряду с органотаксисом обусловливают преимущественное накопление химических субстанций. Можно себе представить, что данный орган поглощает данное вещество в большей степени потому, что он находится в возбужденном состоянии, вызванном действием на него специфических аутотоксинов, образовавшихся при впрыскивании эмульсий из соответствующих органов. Из работы Хорошко[4] мы видим, что при ин'екции мозговой ткани животному в мозгу у него наблюдаются изменения, аналогичные изменениям, полученным при применении цитотоксической специфической сыворотки. Клетки, находящиеся в возбужденном состоянии, сильнее вбирают в себя красящие и другие вещества (Siegmund[5], Аничков[6], Кузнецовский).

[1] Цит. по Hammersten'у. Физиол. химия. 1914.
[2] Arch. f. Entwick. gesch. 1897, Bd. 4.
[3] Ann. de l'Ins. Past., 1924, № 3.
[4] Диссерт. Харьков, 1913.
[5] M. med. Woch. 1923, № 1.
[6] Kl. Woch. 1921, 38.

Можно указать еще на один пример, где, видимо, играет роль изучаемое нами явление — вакцинация против бешенства. Virus бешенства гнездится преимущественно в нервной ткани. Применяя вакцинацию из эмульсии нервной ткани, мы достигаем цели вернее, чем пользуясь каким-либо другим материалом или тканью от больного животного: virus бешенства, соединенный с нервной субстанцией, стремится максимально в нервную же субстанцию, являющуюся главным местом нахождения вируса.

На основании приведенных опытов мы хотели бы сделать следующие выводы.

Выводы.

1. При ин'екции животным коллоидных красок и некоторых химических веществ (железо, салициловый натр) в смеси с эмульсиями различных органов происходит избирательная концентрация введенного химического вещества в том органе, с эмульсией которого оно вводится.

2. Механизм можно предположить двоякий: с одной стороны, положительный химиотаксис родственных клеток (органотаксис), с другой—усиленное поглощение веществ клетками органа, находящимися в возбужденном состоянии, благодаря действию специфических цитотоксинов.

Из Лаборатории Ленинградского Туб. Института (дир.—проф. А. Я. Штернберг†)

Экспериментальная гонорея у животных с видоизмененной конституцией.

Проф. *Ар. Я. Штернберга*, *С. Г. Щедровицкого* и *Е. М. Рабиновича* (Ленинград).

(С 2 табл.).

Литература по вопросу об экспериментальной гонорее не велика. В течение очень долгого времени все попытки получить у животных гонорею оказывались тщетными. Многим (Fonseca, Morax, Legrain) удавалось вызвать в уретре и кон'юнктиве у кроликов и морских свинок, а Reenstierna — у человекоподобных обезьян слабую реакцию, краснoту, раздражение, но *без размножения гонококков*. Финкельштейну после предварительной анафилактизации подкожной клетчатки мошонки кролика токсичной дозой вакцины и введения после этого культуры гонококка (на кроличьей среде) удалось видеть размножение гонококка в ткани в течение не дольше 3 — 4 недель. Эти неудачи побудили перейти к экспериментальному заражению после предварительной сенсибилизации, что, как известно, было с успехом применено Вассерманом, Безредкой и другими авторами при экспериментах с иными микробами. Эти авторы (Venulet, Sedan, Hermann, Zoeller) при помощи предварительной сенсибилизации слизистых оболочек кон'юнктивы, кишечника получили у кроликов заболевание b. typhi и b. paratyph. B, а также тифозные, дифтерийные и дизентерийные керато-кон'юнктивиты.

По отношению к гонорее этот способ впервые использовали Коробкова, Борю и Шеришорина в Саратове в 1925 году. Путем предварительной сенсибилизации желчью слизистых оболочек кон'юнктивы уретры и влагалища и последовательного нанесения на эти сенсибилизированные участки гонококковой культуры им удалось вызвать у кроликов ряд характерных для гонореи явлений с получением в мазках гонококков и гонококковых культур путем посевов. То же удалось получить Калинину и Фальберг из лаборатории Белоновского на кон'юнктиве у кроликов с характерной клинической картиной гонорейного кон'юнктивита с нахождением гонококков в мазках и посевах. Такие же результаты на кон'юнктиве у кроликов получили Прибылев и Павлова из Ленингр. Пастеровского Института.

В опытах этих исследователей процесс длился максимум $2^1/_2$ месяца. Результаты, полученные при помощи сенсибилизации у всех вышеупомянутых авторов, должны считаться значительным успехом в области экспериментальной гонореи. Однако, ни одному из этих авторов